

- [1] Grundlegende neuere Literatur: a) E. J. Corey, X.-M. Cheng: *The Logic of Chemical Synthesis*, Wiley, New York 1989; b) A.-U. Rahman, P. W. LeQuesne (Hrsg.): *Natural Products Chemistry III*, Springer, Berlin 1989; c) K. Hostettmann, P. J. Lea (Hrsg.): *Biologically Active Natural Products*, Oxford University Press, Oxford 1987.
- [2] Der Name Golfomycin wurde nach dem griechischen Namen Golfo von G. S. geprägt, die es als erste synthetisierte.
- [3] Einige Beispiele für speziell konzipierte DNA-spaltende Verbindungen siehe a) K. C. Nicolaou, Y. Ogawa, G. Zuccarello, H. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 7247; b) K. C. Nicolaou, G. Skokotas, P. Maligres, G. Zuccarello, E. J. Schweiger, K. Toshima, S. Wendeborn, *Angew. Chem.* 101 (1989) 1255; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 1272; c) T. J. Povsic, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 3059; d) R. P. Hertzberg, P. B. Dervan, *ibid.* 104 (1982) 313; e) H. E. Moser, P. B. Dervan, *Science* 238 (1987) 645; f) D. R. Corey, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 8523; g) A. M. Pyle, E. C. Long, J. K. Barton, *ibid.* 111 (1989) 4520; h) D. S. Sigman, *ibid.* 111 (1989) 4941; i) M. Ohno, M. Otsuka, *ibid.* 112 (1990) 838; j) N. B. Mantlo, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* 54 (1989) 2781.
- [4] Elegante Arbeiten zu diesem Mechanismus, siehe a) A. G. Myers, E. Y. Kuo, N. S. Finney, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 8057; b) A. G. Myers, P. S. Dragovich, *ibid.* 111 (1989) 9130.
- [5] Alle neuen Verbindungen ergaben passende spektroskopische, analytische und/oder massenspektrometrische Daten. Ausbeuten beziehen sich auf spektroskopisch und chromatographisch reines Material. Einige ausgewählte physikalische Daten der wichtigsten Verbindungen (Ar = Aryl): **1**: schwachgelber Feststoff; zersetzt sich beim Erhitzen; $R_f = 0.36$ (Kieselgel, 70% Ether in Petrolether); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.17$ (1 H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar), 7.46 (3 H, m, Ar), 4.16 (1 H, m, CH-OH), 2.92 (4 H, m, Propargyl), 2.58 (1 H, d, $J = 8.5$ Hz, OH); IR (CHCl_3): $\bar{\nu}_{\text{max}} = 3607, 3556, 3019, 2255, 2227, 1630, 1592, 1280, 1216, 668$; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 176.06$ (C=O), 136.30 (Ar), 133.07 (Ar), 132.67 (Ar), 129.19 (Ar), 128.13 (Ar), 124.44 (Ar), 95.80 (acetylenisch), 93.83 (acetylenisch), 85.12 (acetylenisch), 83.21 (acetylenisch), 65.14 (COH), 28.96 (Propargyl); UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 330$ ($\epsilon = 0.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 274 (1.4×10^4) nm; MS (Hochauflösung): ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2$ (M^+) 211.0759, gef. 211.0791. **15**: gelber Feststoff, $\text{Fp} = 172.3^\circ\text{C}$; $R_f = 0.33$ (Kieselgel, EtOAc); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.53$ (1 H, d, $J = 7.9$ Hz, Ar), 8.02 (1 H, d, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.66 (1 H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.60 (1 H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.34 (1 H, d, $J = 5.4$ Hz, CH=CH-O), 6.61 (1 H, d, $J = 5.4$ Hz, CH=CH-O), 6.29 (1 H, s, C=CH-CO), 2.86 (3 H, s, Me); IR (CHCl_3): $\bar{\nu}_{\text{max}} = 1650, 1615, 1590, 1550, 1325, 1260, 1215, 933, 883, 845, 670 \text{ cm}^{-1}$; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 181.71$ (C=O), 159.15 (C=C(Me)O), 144.76 (C=CH-O), 140.31 (C=C-C=O), 134.36 (Ar), 132.02 (Ar), 129.97 (Ar), 112.16 (Ar), 113.17 (C=C(Me)O), 112.39 (C=CH-C=O), 112.18 (CH=CH-C=O), 23.02 (Me); UV (CH_2CN): $\lambda_{\text{max}} = 370$ ($\epsilon = 1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 278 (0.9×10^4), 240 (2.5×10^4), 212 (2.5×10^4) nm; MS: ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2$ (M^+) 210.0681, gef. 210.0666. **16**: gelbliches Öl, $R_f = 0.54$ (Kieselgel, 50% Ether in Petrolether); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.15$ (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar), 7.65 (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar), 7.48 (1 H, t, $J = 8.4$ Hz, Ar), 7.38 (1 H, t, $J = 8.4$ Hz, Ar), 6.52 (1 H, d, $J = 5.6$ Hz, CH=CH-O), 6.48 (1 H, s, C(OH)=CH), 6.06 (1 H, q, $J = 6.6$ Hz, O-CH-CH₃), 5.69 (1 H, d, $J = 5.6$ Hz, CH=CH-O), 1.50 (3 H, d, $J = 6.6$ Hz, Me); IR (CHCl_3): $\bar{\nu}_{\text{max}} = 3596, 1641, 1616, 1559, 1420, 1309, 1228, 1218, 1119, 1069, 1048, 847, 765$ nm; UV (CHCl_3): $\lambda_{\text{max}} = 336, 280, 270, 248$ nm; MS: ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2$ (M^+) 212.0837, gef. 212.0813. **20**: gelbes Öl, $R_f = 0.47$ (Kieselgel, 20% Ether in Petrolether); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.74$ (1 H, d, $J = 7.4$ Hz, Ar), 7.59 (1 H, s, C=CH), 7.37 (1 H, m, Ar), 7.25 (2 H, m, Ar), 4.42 (1 H, m, CH-OSi), 3.73 (3 H, s, COOMe), 3.28 (1 H, m, C=C-CH), 2.97 (1 H, dd, $J = 14.2, 2.5$ Hz, C=C-CH), 2.72 (1 H, m, Propargyl), 2.49 (1 H, m, Propargyl), 0.90 (9 H, s, SiR₃), 0.13 (6 H, s, SiMe); IR (CHCl_3): $\bar{\nu}_{\text{max}} = 2954, 2858, 2246, 1714, 1472, 1282, 1097, 865, 723$; UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 288, 256, 234, 222$ nm; MS: ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Si}$ (M^+) 413.1606, gef. 413.1587. **21**: farbloses Öl; $R_f = 0.27$ (Kieselgel, 50% Ether in Petrolether); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.19$ (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, Ar), 7.61 (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, Ar), 7.52 (1 H, t, $J = 7.0$ Hz, Ar), 6.83 (1 H, s, CH=C-OH), 6.72 (1 H, d, $J = 15.4$ Hz, CH=CH-S), 6.56 (1 H, d, $J = 15.4$ Hz, CH=C-OH), 3.80 (3 H, s, COOMe), 3.53 (2 H, s, SCH₂COOMe), 2.62 (3 H, s, COMe); IR (CHCl_3): $\bar{\nu}_{\text{max}} = 3590, 1737, 1692, 1621, 1595, 1517, 1438, 1389, 1357, 1289, 1209, 1141, 1078, 1010$ nm; UV (CHCl_3): $\lambda_{\text{max}} = 362(\text{s}), 316, 290, 246$ nm; MS: ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{S}$ (M^+) 317.0847, gef. 317.0879.
- [6] a) R. D. Stevens, C. E. Castro, *J. Org. Chem.* 28 (1963) 3313; b) K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* 1975, 4467; c) V. Rato-velomana, G. Linstrumelle, *Synth. Commun.* 11 (1981) 917.
- [7] Einzelheiten zur Röntgenstrukturanalyse werden an anderer Stelle veröffentlicht.
- [8] Die beobachtete zweite Welle von DNA-Spaltungsaktivität bei pH ≥ 9 könnte den Beginn dieser Reaktionskaskade anzeigen.
- [9] Offensichtlich addiert sich die SH-Gruppe des Methylthioglycolats *trans* an die Dreifachbindung von **12** unter Bildung von **18**; andernfalls wäre der Folgeschritt **18** \rightarrow **19** unmöglich. Übereinstimmend mit dieser Beobachtung ergaben MM2-Berechnungen, daß **18** um ca. 4.9 kcal mol⁻¹ weniger

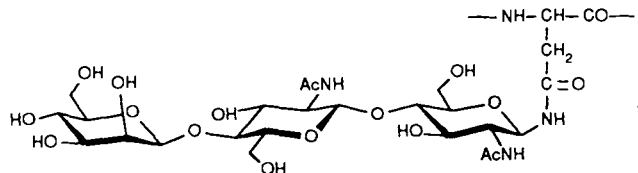
gespannt ist als das (Z)-Isomer. Die Konfiguration von **19** wurde nicht ermittelt.

- [10] Dieser auffallende Unterschied in der Regioselektivität könnte das Ergebnis einer Kombination von sterischen Effekten sein (Größe des Nucleophils und Umgebung des elektrophilen Zentrums).
- [11] Golfomycin **15** zeigt ebenfalls DNA-Spaltungs- und Antitumor-Aktivität, allerdings schwächer als Golfomycin **1** (ca. 10fach). Diese Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit Dr. D. Rideout, Research Institute of Scripps Clinic, durchgeführt.
- [12] Obwohl man versucht ist, einen Zusammenhang zwischen der Spaltung von DNA und der Antitumor-Aktivität zu sehen, muß dies mit Vorsicht getan werden, bis weitere Ergebnisse vorliegen.

Synthese eines β -Mannosyl-Chitobiosyl-Asparagin-Konjugates – eines zentralen Elements der Core-Region von N-Glycoproteinen**

Von Wolfgang Günther und Horst Kunz*

N-Glycoproteine sind als Membran- und Serumbestandteile in lebenden Organismen weit verbreitet. Zu ihnen gehören wichtige Funktionsträger der biologischen Selektivität wie die Immunglobuline und das Transferrin^[1]. In der Regel sind N-Glycoproteine durch eine N-glycosidische Bindung zwischen einer N-Acetylglucosamin- und der Amidfunktion einer Asparagin-Einheit gekennzeichnet. Auf der Kohlenhydratseite folgen eine weitere N-Acetylglucosamin- und eine Mannose-Einheit als Bausteine. Die Verknüpfungen sind $\beta(1 \rightarrow 4)$ -glycosidisch, so daß dieser Ausschnitt der Core- und Verknüpfungsregion als Man $\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{Asn } 1$ formuliert werden muß.



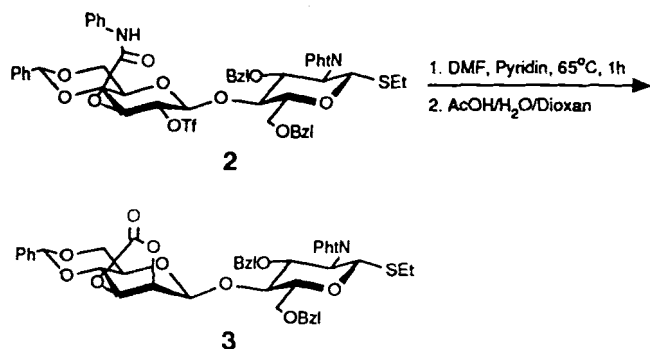
Die β -glycosidisch verknüpfte Mannose-Einheit in **1** nimmt einen zentralen Platz in den Oligosaccharid-Seitenketten der N-Glycoproteine ein, da sie, über Anbindung von α -Mannosid-Einheiten, der Ausgangspunkt der Verzweigungen in den antennären Saccharid-Seitenketten ist.

Die schwierige chemische Synthese von β -Mannosiden (Nachbargruppenbeteiligung und die thermodynamische Kontrolle begünstigen die Bildung von α -Mannosiden stark) gelang durch Verwendung von Silbersilicat-Katalysatoren^[2] und über Oxidation/Reduktion am C-2-Zentrum von Glucosiden^[3] effektiv. In beiden Fällen werden jedoch unerwünschte Anomere oder Epimere als Nebenprodukte erhalten, die abgetrennt werden müssen. Wir hatten 1988 eine gezielte β -Mannosid-Synthese vorgestellt, die auf der Inversion der Konfiguration an C-2 von Glucosiden beruht^[4] (Schema 1). Über das Glucosylglucosamin **2** wird durch intramolekulare nucleophile Substitution das β -Mannosylglucosamin **3** in einer Gesamtausbeute von 85% erhalten.

Das Thioglucosid **3** wird nun nach den Konzept von Lönn^[5] mit Phenylselenyltriflat^[6] aktiviert und mit dem

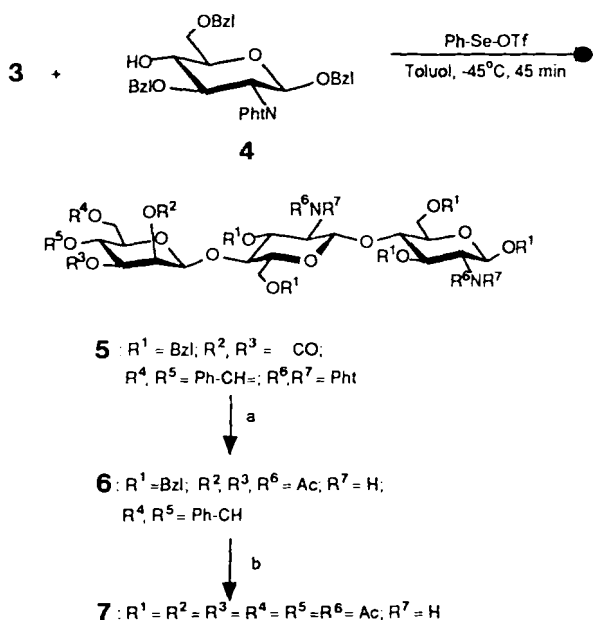
[*] Prof. Dr. H. Kunz, Dipl.-Chem. W. Günther
Institut für Organische Chemie der Universität
Joh.-Joachim-Becher-Weg 18–20, D-6500 Mainz

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.



Schema 1. DMF = Dimethylformamid. Pht = Phthaloyl.

Glucosamin **4** verknüpft (Schema 2). Von dem nach chromatographischer Reinigung in 76% Ausbeute erhaltenen β -Mannosyl-Chitobiose-Derivat **5** werden mit Natriummethanolat/Methanol die Carbonat-Gruppierung und mit Hydrazin/Ethanol die *N*-Phthaloyl-Schutzgruppen entfernt. Nach Acetylierung der so freigelegten Amino- und Hydroxyfunktionen zum Trisaccharid **6** werden hydrogenolytisch die benzylischen Schutzgruppen abgelöst und durch Acetylierung das peracetylierte Trisaccharid **7** gebildet, das als Anomerenmisch in einer Ausbeute von 85%, bezogen auf **5**, anfällt.

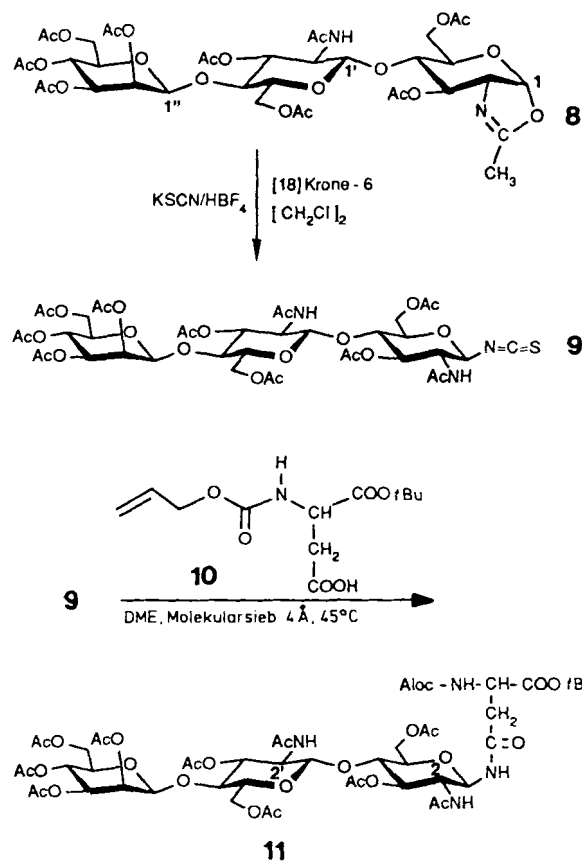


Schema 2. a) 1. NaOMe/MeOH; 2. $\text{H}_2\text{N-NH}_2$, EtOH; 3. Ac_2O /Pyridin.
 b) 1. H_2 /Pd-C; 2. Ac_2O /Pyridin.

Mit Trifluormethansulfonsäure-trimethylsilylester, aber auch mit Acetylchlorid/HCl und anderen Aktivierungsmitteln bildet sich aus **7** ausschließlich das Dihydrooxazol **8**^[7]. Alle Versuche, **8** mit Trimethylsilylazid/ SnCl_4 nach einer Vorschrift von Jeanloz et al.^[8] in das anomere Azid umzuwandeln, verliefen erfolglos. Auch das beim entsprechenden Chitobiosylchlorid ergiebige Phasentransfer-Verfahren^[9] lieferte nicht das gewünschte Trisaccharidazid. Um die Verknüpfung des Trisaccharids **7** mit Asparagin dennoch zu erreichen, wurde **8** zunächst in 85% Ausbeute mit Kaliumrhodanid/HBF₄ unter Katalyse mit [18]Krone-6^[10] in das Trisaccharidisothiocyanat **9** überführt (Schema 3).

In dieser Reaktion bildet sich zuerst das anomere Rhodanid, welches sich dann zu **9** umlagert. Die Umsetzung des Isothiocyanats **9**^[11] mit *N*-Allyloxycarbonyl-L-asparagin-

säure- α -*tert*-butylester **10** erfordert strengen Wasserausschluß. Dennoch läßt sich die störende Bildung von *N,N'*-Bisglycosylthioharnstoff nicht völlig vermeiden. Man erhält die Zielverbindung, das β -Mannosyl-Chitobiosyl-Aspara-



Schema 3.

gin-Derivat **11** in 75% Ausbeute^[12]. Damit konnte erstmals ein Core-Regionen-Element der *N*-Glycoproteine so synthetisch aufgebaut werden, daß die problematische Anknüpfung der β -Mannosid- an die Chitobiosyl-Asparagin-Einheit korrekt erfolgte.

Eingegangen am 14. Mai 1990 [Z 3955]

- [1] Übersichten: J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 37 (1980) 157; H. Paulsen, *Angew. Chem.* 102 (1990) 851; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 823.
- [2] H. Paulsen, O. Lockhoff, *Chem. Ber.* 114 (1981) 3102.
- [3] C. Auge, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.* 82 (1980) 85.
- [4] H. Kunz, W. Günther, *Angew. Chem.* 100 (1988) 1118; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 1086.
- [5] H. Lönn, *Carbohydr. Res.* 139 (1985) 105.
- [6] Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.* 29 (1988) 1061.
- [7] **8**: $[\alpha]_D^{25} = -24.7$ ($c = 1$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.86$ (d, $J(1,2) = 7.3$ Hz, 1H; 1'-H), 4.51 (d, $J(1',2') = 8.5$ Hz, 1H; 1'-H), 4.64 (s, 1H; 1''-H).
- [8] S. Nakabayashi, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.* 174 (1988) 279.
- [9] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* 97 (1985) 855; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 883.
- [10] W. P. Stöckl, H. Weidmann, *J. Carbohydr. Chem.* 8 (1989) 169.
- [11] Für analoge Reaktionen von Glycosyloisothiocyanaten mit Carbonsäuren siehe A. Y. Khorlin, S. E. Zurabyan, R. G. Macharadze, *Carbohydr. Res.* 85 (1980) 201.
- [12] **11**: $[\alpha]_D^{25} = -25.4$ ($c = 1$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.2$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H; $\gamma\text{-NH}_{\text{Asn}}$), 6.60 (d, $J(\text{NH}, 2) = 7.5$ Hz, 1H; 2-NHAc), 6.44 (s, 1H; 2-NHAc), 4.65 (s, 1H; 1''-H), 2.73 (dd, $J(\text{gem}) = 16$, $J(\text{vic}) = 3.8$ Hz, 1H; $\beta\text{-CH}_2\text{-Asn}$), 1.36 (s, 9H, *t*Bu).